



# Characterization of PPAR Agonist using Molecular Biological Methodology

著者	Sakamoto Junichi
発行年	2018
その他のタイトル	分子生物学的手法によるPPAR活性化薬の性状解析
学位授与大学	筑波大学 (University of Tsukuba)
学位授与年度	2017
報告番号	12102甲第8569号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2241/00152721">http://hdl.handle.net/2241/00152721</a>

氏名	坂本 潤一		
学位の種類	博士( 生物科学 )		
学位記番号	博甲 第 8569 号		
学位授与年月日	平成 30年 3月 23 日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Characterization of PPAR Agonist using Molecular Biological Methodology  (分子生物学的手法による PPAR 活性化薬の性状解析)		
主査	筑波大学教授	理学博士	沼田 治
副査	筑波大学教授	博士( 理学 )	中田 和人
副査	筑波大学教授	博士( 農学 )	三浦 謙治
副査	筑波大学准教授	博士( 理学 )	丹羽 隆介

## 論文の要旨

2 型糖尿病は、すい臓におけるインスリン分泌能低下と、骨格筋、脂肪細胞及び肝臓でのインスリン抵抗性増大によって、慢性的な高血糖が引き起こされる疾患である。2 型糖尿病治療薬として、インスリン抵抗性改善作用を有するチアゾリジンジオン誘導体のピオグリタゾン<sup>®</sup>は、核内レセプターである peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) に作用する。ピオグリタゾンは PPAR $\gamma$  を介し、脂肪組織における遺伝子発現を変動することにより、脂肪細胞小型化及びアディポカイン正常化を促進する。その結果、体全体のエネルギーの流れが正常化され、筋肉や肝臓における脂肪沈着が抑制されることにより、インスリン抵抗性が改善される。PPAR には、PPAR $\gamma$  と肝臓での脂質低下作用に関わる PPAR $\alpha$ 、筋肉などで脂肪燃焼作用に関わる PPAR $\delta$  の 3 種類のサブタイプが存在する。

坂本氏は、PPAR $\gamma$  を標的とした薬剤の性状解析と新規化合物創出のため、4 種類のアッセイ系を構築した。タンパク質に直接結合することを確認する結合アッセイ、各サブタイプに対し、多検体を評価可能なレポータージーンアッセイ、核内レセプター活性化メカニズムを確認するコファクターアッセイ、そして、より生体に近いフェノタイプアッセイである。これらのアッセイ系を駆使して、ピオグリタゾンの

性状解析を行い、次に PPAR $\gamma$  選択的なアゴニスト作用に、PPAR $\alpha$  活性化による脂質低下作用や PPAR $\delta$  活性化による脂肪燃焼作用などの新規作用を付加した”ピオグリタゾン後継薬”の探索を実施した。

第 1 章では、結合アッセイ系とレポータージーンアッセイ系を用いた、ピオグリタゾンの PPAR サブタイプ活性化作用について述べられている。その結果、ピオグリタゾンはヒト PPAR $\gamma$  に対して濃度依存的な結合作用と転写促進活性を示したが、ヒト PPAR $\alpha$  に対して非常に弱い結合活性と転写活性化作用を持ち、PPAR $\delta$  に対しては結合活性と転写活性化作用を示さないことが明らかになった。

第 2 章では”ピオグリタゾン後継薬”であるオキシイムノアルカン酸誘導体 TAK-559 の性状について述べられている。TAK-559 の性状解析は上記 4 種類のアッセイ系を用いて行われた。その結果、TAK-559 は PPAR $\gamma$  及び PPAR $\alpha$  に対するデュアルアゴニストであった。TAK-559 を糖尿病モデル動物 KKAY マウスで評価したところ、ピオグリタゾンより強力な血糖降下作用とピオグリタゾンの 50 倍も強力なトリグリセリド低下作用を有していた。PPAR $\gamma$  の活性化作用に、脂質代謝改善に関わる PPAR $\alpha$  活性化作用を付加したことが奏功したと考えられた。

ピオグリタゾンには、体重増加や浮腫などの副作用があり、大きな問題になっていた。レポーターアッセイによって、TAK-559 の PPAR $\gamma$  活性化作用はチアゾリジンジオン誘導体の 68%程度であった。これは TAK-559 が PPAR $\gamma$  の部分作動薬活性を有することを示唆する。TAK-559 を糖尿病モデル動物に投与したところ、TAK-559 は体重増加を軽減しながら、血糖降下作用を示した。TAK-559 の PPAR $\gamma$  部分活性化作用が体重増加作用の軽減に繋がったと考えられる。この結果は、今後の PPAR 活性化薬の開発に大きな指針を示すものである。

## 審 査 の 要 旨

坂本氏は、本研究において、分子生物学的な手法を用いて、ピオグリタゾンの PPAR サブタイプに対する活性化作用について検討し、ピオグリタゾンが PPAR $\gamma$  選択的な活性化薬であることを明らかにした。次いで、PPAR $\gamma$  選択活性化薬に新規な作用を付加するために、4 種類の *in vitro* アッセイ系を駆使して、新規化合物のスクリーニングを行い、PPAR $\gamma/\alpha$  デュアルアゴニストである TAK-559 を発見した。さらに、TAK-559 の部分活性化作用が、体重増加軽減などの副作用回避に繋がることを示した。このように、坂本氏が構築した分子生物学的手法を利用した *in vitro* アッセイシステムは、核内受容体に対する薬剤創出やそれらの薬剤の新たな生体調節メカニズムを解明するために威力を発揮した。

平成 30 年 1 月 29 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（生物科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。